

Aus der 1. Inneren Abteilung d. Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München (Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Die Einwirkung eines Serums ohne nachweisbaren
Erythropoetingehalt bei langjähriger Polyglobulie
auf menschliches Knochenmark in vitro

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter-Michael Troester

aus Berlin

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553616_0107

Aus der 1. Inneren Abteilung d. Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München (Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Die Einwirkung eines Serums ohne nachweisbaren
Erythropoetiningehalt bei langjähriger Polyglobulie
auf menschliches Knochenmark in vitro

Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter-Michael Troester
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Professor Dr. med. Horst Brücher



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 22.2.1972

Druck: H. Franzen, Berlin 391 23 25

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
2. Material und Methode	9
3. Ergebnisse	18
4. Zusammenfassung der Ergebnisse	27
5. Diskussion	29
6. Zusammenfassung	32
7. Tabellen	33
8. Graphische Darstellungen	38
9. Literaturverzeichnis	48
10. Lebenslauf	

EINLEITUNG

Definition und Pathogenese der Polyglobulien;
Grundzüge der erythropoetینگesteuerten Erythropoese;
Fragestellung.

Als Polyglobulie wird die reaktive Vermehrung der Erythrocyten in der Volumeneinheit des Blutes bezeichnet. Diese sekundäre, symptomatische Erythrocytose ist abzugrenzen von der primären, essentiellen Polycythämie (Vaquez-Oslersche Krankheit). Man ist übereingekommen, einen Zustand, in dem bei Männern die Anzahl der Erythrocyten sechs Millionen, der Hämoglobingehalt 18 g% und der Hämatokrit 55 Vol.% übersteigt, als Polyglobulie bzw. Polycythämie zu bezeichnen (33).

Die Polyglobulien haben gemeinsame Merkmale, die es möglich machen, sie in einer Gruppe zusammenzufassen und damit von der Polycythämia vera zu differenzieren:

1. Die quantitativen Veränderungen betreffen nur das Erythrocytensystem; im Knochenmark findet man eine angeregte Erythropoese, keine Veränderung der Granulo- und Thrombopoese.
2. In den unkomplizierten Fällen ist die Milz nicht vergrößert.
3. Es gelingt in der Regel, ein Grundleiden oder irgendwelche das Erythropoesegleichgewicht störenden Ursachen aufzudecken.
4. Ist die Erythrocytose das Resultat einer Adaptierung an veränderte Lebensbedingungen, so verschwinden die Symptome nach Normalisierung der Umweltbedingungen.

Zahlreiche Ursachen für Polyglobulien sind beschrieben worden (10,12,13,17,18,36,39,56).

FRICK (17) unterteilt sie in zwei Hauptgruppen:

I. Hypoxämische Polyglobulien

II. Nichthypoxämische Polyglobulien

Zu den ersteren gehören: (Geändert nach BEGEMANN, (3))

1. Physiologische Höhenpolyglobulie:

Diese zuerst von Viault (1890) beschriebene Polyglobulie wird durch einen äußeren Sauerstoffmangel hervorgerufen. Es handelt sich hier um eine Akklimatisation mit einer Steigerung der Erythropoese in Abhängigkeit von der Höhe, d.h. um eine kompensatorische Anpassung an den O_2 -Druck.

2. Kardial und pulmonal bedingte Polyglobulie:

Im Gegensatz zur Höhenpolyglobulie wird diese durch ein "inneres Sauerstoffdefizit" hervorgerufen. Als Ursache kommen angeborene und erworbene Herzfehler oder chronische Erkrankungen der Lunge in Frage.

Die nichthypoxämischen Polyglobulien sind:

1. Hormonale und zentrogene Polyglobulien:

Sie kommen durch eine Störung in der Regulation des Erythrocytensystems selbst zustande, deren Ursache noch nicht eindeutig geklärt ist. Besonders häufig ist die verstärkte Ausschüttung von Thyroxin, Androgenen und Cortisol mit einer Steigerung der Erythropoese verbunden.

Hier einzureihen sind auch die mit erhöhter Erythropoetinproduktion einhergehenden Polyglobulien, die nach verschiedensten Nierenerkrankungen, Leberschädigungen, zerebralen Störungen und Tumoren auftreten.

2. Toxische Polyglobulien:

Unter diesen Begriff fallen die reaktiven Erythrocytosen durch exogene Gifte. Bei der chronischen Kohlenoxydvergiftung führt ebenso wie bei methämoglobinbildenden Giften die Störung der O_2 -Aufnahme oder -Abgabe im Gewebe zur Polyglobulie. Diese Gifte führen bei langdauernder Verabreichung kleiner Dosen, die keine Anämie erzeugen, zur reaktiven Vermehrung der Erythrocyten im Sinne einer Überkompensation.

3. Reparative Polyglobulien bei Blut- und anderen Krankheiten:

Als vorübergehendes Symptom beschreibt Heilmeyer Polyglobulien im Reparationsstadium sowohl der Perniziosa als auch hämolytischer Anämien. Auch am Beginn von Leukämien sowie vereinzelt beim multiplen Myelom und der Thalassemia minor werden sie beobachtet.

4. Relative bzw. Pseudopolyglobulien:

- A) Hier handelt es sich nicht um eine Funktionsstörung des Knochenmarkes, sondern um eine relative Vermehrung der Erythrocyten und des Hämoglobingehaltes infolge verminderter Plasmamenge bei normalem Erythrocytenvolumen. Ursache sind Krankheiten, die mit Dehydration des Blutes einhergehen.
- B) Im Gegensatz zu dieser in der Regel vorübergehenden Erscheinung beschreiben DAMESHEK (13) und auch LAWRENCE (35) eine chronische Form und bezeichnen sie als "stress erythrocytosis" bzw. "polycythemia of stress".

Die vielfältigen Entstehungsmöglichkeiten von Polyglobulien veranlaßten zahlreiche Autoren nach einem allen diesen Formen gemeinsamen Faktor zu suchen, der die Erythropoese stimuliert. Carnot und Deflandre stellten 1906 als erste fest, daß Serum von blutungsanämischen Kaninchen, das an zwei aufeinanderfolgenden Tagen normalen Kaninchen subcutan injiziert wurde, deren Erythrocytenzahl nach einem Tag verdoppelte. Sie hielten hiermit die Existenz eines humoralen erythropoesestimulierenden Faktors für bewiesen und nannten ihn *hémopoïétine*.

Zahlreiche Forscher versuchten nun diese Ergebnisse zu bestätigen oder zu widerlegen, aber die ersten überzeugenden Hinweise auf das Vorhandensein eines hämopoetischen Faktors lieferten 1943 KRUMDIECK (27) im Serum von anämisierten Kaninchen, 1948 BONSDORF und JALAVISTO (9) unter hypoxischen Bedingungen sowie REISSMANN (46) im Jahre 1950 mit seinen Parabiose-Versuchen. Die einschränkenden und somit treffenderen Bezeichnungen Erythropoetin, erythropoetischer Faktor und Erythropoese-stimulierender Faktor (ESF) haben sich inzwischen durchgesetzt. REMMELE (47) definiert ihn als "einen humoral wirkenden, bei Zuständen erhöhten Erythrocytenbedarfs vermehrt gebildeten Stoff, der direkt auf das Knochenmark einwirkt und in ihm die Erythropoese stimuliert."

Er entsteht aus einem im Serum zirkulierenden Substrat (Proerythropoetin), das nach Inkubation mit einem renalen erythropoetischen Faktor (REF oder Erythrogenin) enzymatisch aktiviert und damit zum wirksamen Erythropoetin wird (53, 61).

Verschiedene Angriffspunkte des ESF auf die Erythropoese sind zu unterscheiden:

1. Der Angriff auf eine multipotente oder bereits initial differenzierte Stammzelle, die zur weiteren Differenzierung in Richtung rote Reihe veranlaßt wird (1,11,29, 32,55,60).

2. Auf die Proliferation der Erythroblasten (38,60).
3. Auf die Hämsynthese (55).

Es spielen alle drei Punkte eine Rolle, wenn auch das Übergewicht bei der Wirkung auf die unreifsten Zellformen der Erythropoese liegt (53,59).

Mit dem biologischen Nachweis des Erythropoetins haben sich viele Autoren beschäftigt und dabei unterschiedliche Methoden angewandt. Hieraus ergeben sich wahrscheinlich die häufigen Widersprüche in den Ergebnissen. Vier Parameter bestimmen die Methoden des quantitativen Erythropoetinnachweises: (Nach REMMELE 47)

1. Steigerung der Erythropoetinbildung bei Versuchstieren.
2. Auswahl eines erythropoetinhaltigen Testmaterials wie Vollblut, Blutplasma, Blutserum, Harn und Harnextrakte, Homogenate und Filtrate aus Organen und Geweben, Milch und Lymphe.
3. Auswahl eines geeigneten Testobjekts. Hier sind die Möglichkeiten besonders vielfältig. Normale Tiere finden ebenso Verwendung wie solche, deren Erythropoetinproduktion gehemmt wurde durch Bluttransfusionen, Sauerstoffüberangebot, Hunger, Hypophysektomie oder Bestrahlung.
4. Auswahl eines geeigneten Kriteriums zur Messung der Veränderungen der Erythropoese. Möglichkeiten hierzu bieten das Knochenmarksschnittpräparat, der Knochenmarksausstrich, die Knochenmarkfunktion, das periphere Blutbild, die Erythrocytenfunktionen oder die extramedulläre Blutbildung.

Es ist davon auszugehen, daß die Erythropoetinbildung abhängt von der Beziehung zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im Gewebe (59).

Dieses Gleichgewicht (s.o. Punkt 1.) wird gestört durch Herabsetzung des O_2 -Gehaltes der Einatemungsluft (29,30 54,60) bzw. der Umgebung *in vitro* (2), durch Erzeugen einer Anämie nach Blutentzug (16,47,54) oder Phenylhydrazin-Gabe (43), durch Erzeugen einer Transfusionspolyglobulie (15,43) unter besonderer Berücksichtigung der Blutviskosität (23), durch Überdruck (37,42). Auch nach Inkubation mit Anämiker- oder Polyglobulieserum (24,25,38) *in vitro* und durch direkte Erythropoetingabe (29), sowie mit CO_2 -Überdruck *in vivo* und *in vitro* läßt sich eine Änderung im Erythropoesehaushalt nachweisen (16).

Nicht einheitlich waren die Ergebnisse bei den Untersuchungen über die erythropoesestimulierende Aktivität von Geweben, Zystenflüssigkeit und Serum polyglobuler Spender (20,56,59).

Ebenfalls widersprüchlich sind die Auffassungen verschiedener Autoren über das Vorhandensein von physiologischen Inhibitoren der roten Blutbildung. Diese "Plasmafaktoren" wurden gefunden bei Schafen, Kaninchen, Mäusen (28,58,59) sowie Hochlandbewohnern (48) und übertransfundierten anämischen Patienten (59), so daß die negativen Resultate von ERSLEV und THORLING (15), die im Plasma von polyglobulen Kaninchen, Ratten und Mäusen keinen hemmenden Effekt auf die Erythropoese normaler und sensibilisierter Testtiere fanden, evtl. auf die Versuchsanordnung zurückzuführen sind.

Außerdem sind die gesamten Untersuchungen, die die Aufnahme von radioaktivem Eisen *in vitro* als Kriterium haben (23,24, 25,29,37,42,43,48,54,56,58,59), problematisch. Der biologische Schaden während der Bestrahlung durch das Isotop und die Frage, ob tatsächlich eine Fe-Aufnahme zur Hb-Synthese führt, oder ob nur eine Phagocytose in den Retikulumzellen oder gar nur eine Adhäsion an die Zelloberfläche

vorliegt, ist noch nicht geklärt (50,57).

Fast alle Autoren bedienten sich indirekter Methoden und verwendeten Tiere zum Nachweis fraglicher erythropoeseestimulierender Substanzen bei Polyglobulien.

REMMELE (47) vermochte in einer Zusammenstellung des Schrifttums nur bei 14 von 27 Polyglobulie-Fällen auf eine Erythropoetinvermehrung im Plasma hinzuweisen.

WALDMANN et alii (56) fanden sogar nur bei 27 % ihrer 26 Patienten mit Polyglobulie einen erhöhten Erythropoetintiter im Plasma, während ERSLEV (15) im Serum polyglobuler Ratten gar keine gesteigerte Erythropoetinaktivität nachweisen konnte.

NAGY und DESEÖ (41) untersuchten das Mischplasma von jeweils 10 Patienten mit Polycythämia vera und 10 Patienten mit Polyglobulie und stellten für die erste Gruppe eine um ca. 200 % und für die zweite um ca. 150 % gesteigerte Erythropoetinaktivität fest.

Nach BEGEMANN (3) ist der Erythropoetiningehalt im Serum bei folgenden Polyglobulien vermehrt:

1. Hypoxämische Polyglobulie
2. Reizpolyglobulie (Thyroxin, Androgen, Kobalt etc.)
3. Polyglobulie bei zahlreichen Nieren- und Lebererkrankungen sowie
4. bei einigen Tumoren (z. B. Hämangioblastom, Leiomyom).

Bei weiteren Polyglobulieformen, z. B. nach verschiedenen anderen Tumoren ist es noch unklar, wie es zu einer Steigerung der Erythropoese kommt. Ebenso ist über die Pathogenese der Stress-Polyglobulie nichts bekannt (3). Aus diesem Grunde haben wir es uns zur Aufgabe gemacht, die Wirkung menschlichen Polyglobulieserums ohne erhöhten Erythropoetintiter auf durch Sternalpunktion gewonnenes menschliches Knochenmark in vitro zu untersuchen.

NELP et alii (43) zeigten hierzu auf, daß sich 80 % des erythropoetischen Knochenmarkes im Rumpf befinden. Auch bei Polyglobulien ist dieses Verhältnis nicht gestört (40).

Der Vorteil der Untersuchungsmethode in vitro liegt darin, daß die Erythroblastenvermehrung nicht durch eventuelle zentralnervöse Steuerung beeinflusst werden kann und daß statistisch gut zu bearbeitende Versuchsserien gewonnen werden. Außerdem werden zum Nachweis möglicher erythropoetischer Aktivität des Polyglobulieserums nicht so große Mengen Plasma benötigt.

Als Serumspender diente uns eine Patientin, deren seit 18 Jahren von uns kontrollierte Polyglobulie der Gruppe II/4B (S. 3) zuzuordnen ist und deren Serum-Erythropoetinaktivität mit den Methoden von WOLTERS (59) unterhalb der Nachweisgrenze war.

Folgende Fragen haben wir uns gestellt:

1. Ändert sich die prozentuale Verteilung der Knochenmarkszellen durch den Serumzusatz gegenüber den Kontrollen?
2. Läßt sich eine Wirkung des Polyglobulieserums auf die Mitosehäufigkeit und die Mitosephasenverteilung der Erythroblasten und der Granuloblasten in der Knochenmarkkultur feststellen?
3. Sind morphologische Unterschiede der einzelnen Zellarten in den Versuchen gegenüber den Kontrollen festzustellen?

Material und Methode:

Das für unsere Versuche benötigte Knochenmark erhielten wir mittels Sternalpunktion von insgesamt fünf Patienten. Neben sofort angefertigten Originalausstrichen wurden Kulturen nach der von BOLL (5) modifizierten Carell'schen Technik angelegt.

Noch am Krankenbett, im Anschluß an die Punktion, werden Teile des gewonnenen Knochenmarkes auf dem Objektglas ausgestrichen, fixiert und später nach Pappenheim gefärbt.

Dieses Originalpräparat liefert neben diagnostischen Hinweisen die Ausgangswerte für eine Beurteilung der Zellveränderungen sowie der Reifungs- und Mitosephasenverschiebungen, die während der Kultivierung eintreten.

Das übrige Knochenmark wird in einem durch UV-Bestrahlung keimarm gemachten Raum und unter möglichst sterilen Bedingungen auf das Kulturmedium gebracht.

Für die Versuche wird eine Mischung von 5 Teilen durch Sedimentation in silikonisierten Röhrchen gewonnenes Eigenplasma, 4 Teilen Serum des Patienten mit Polyglobulie sowie 1 Teil Corhormon^R als Wachstoffsstoff auf einem Objektträger zur Gerinnung gebracht. Nach der Koagulation legt man ein Markbröckchen darauf und bedeckt es mit wenig Serum. Anschließend befestigt man einen Hohlschliffobjektträger mit Vaseline darüber, dreht die Kultur um, verschließt sie mit verflüssigtem Hartparaffin und bebrütet sie bei 37°C als hängenden Tropfen.

Nach 24, 48 und 72 Stunden werden die Kulturen auf Objektgläsern ausgestrichen, fixiert und wie die Originalpräparate gefärbt.

In zum Vergleich dienenden Kontrollen wurde statt des Polyglobulieserums das des jeweilig punktierten Patienten selbst zu-

gesetzt, das in der Regel eine Stunde vor der Sternalpunktion gewonnen worden war.

Die Lagerung des Polyglobulieserums geschah im Kühlschrank bei -20°C .

Pro Zeiteinheit und Patient wurden jeweils drei Ausstriche mit dem zu untersuchenden Polyglobulieserum und drei mit Kontrollserum angefertigt. Die Zählung erfolgte an dem am besten zu beurteilenden Präparat, häufig wurden aber auch zwei oder alle drei Ausstriche einer Kulturzeit zur Auswertung herangezogen, bei der nach Möglichkeit 2000 Zellen differenziert wurden. Hierzu musterten wir das Präparat mäanderförmig durch und zählten vorzugsweise die aufgelockerten Randpartien aus.

Folgende Zellen konnten erfaßt werden:

a) Die Erythropoese, differenziert in:

Proerythroblast (PE)
basophiler Erythroblast (bE)
polychromatischer Erythroblast (pE)
oxyphiler Erythroblast (oE)
reifer Erythroblast (rE)

b) Die Granulopoese, differenziert in:

Myeloblast (MB)
Promyelocyt (PM)
neutrophiler Myelocyt (MC)
eosinophiler Myelocyt (eMC)
basophiler Myelocyt (bMC)
Promonocyt (PMo)
Metamyelocyt (neutrophiler jugendlicher Granulocyt) (MM)
stabkerniger Granulocyt (Stab)
segmentkerniger Granulocyt (Seg)
eosinophiler segmentkerniger Granulocyt (eSeg)
basophiler segmentkerniger Granulocyt (bSeg)
Monocyt (Mo)

c) Die übrigen Zellen, differenziert in:

Lymphoblast
Lymphocyt
kleine Retikulumzelle
große Retikulumzelle
phagocytierende Retikulumzelle
Plasmoblast
Plasmazelle
Megacaryocyt

Für die Differenzierung der Zellarten gelten die Kriterien von BOLL (6,7). Außerdem ist die Abgrenzung der einzelnen Mitosephasen wichtig. Als teilungsfähig werden nach ROHR (49) folgende Zellen angesehen:

Proerythroblast
basophiler Erythroblast
polychromatischer Erythroblast
oxyphiler Erythroblast

Myeloblast
Promyelocyt
Myelocyt
Metamyelocyt

Lymphoblast

Wir unterscheiden nach BOLL (6) folgende Mitosephasen:

1. Prophase: Die Kernmembran ist aufgelöst; die Kernsubstanz ist aufgelockert; es gibt keine Nucleolen; es besteht noch ein festes Spirem.
2. Frühe Metaphase: Die gut sichtbaren Chromosomen liegen ungeordnet im lockeren Spirem über die früheren Kerngrenzen hinaus verteilt.

3. Späte Metaphase: Die Chromosomen sind zur Äquatorialplatte, in der Aufsicht als Monaster angeordnet.
4. Anaphase: Die Chromosomen sind in zwei Gruppen geordnet und bilden in der meist ovalen Zelle einen Diaster.
5. Telophase: Der Zelleib zeigt eine deutliche Einschnürung, die nun getrennten Chromosomen bilden ein lockeres Dispirem.
6. Rekonstruktionsphase: Zwischen beiden sich gleichenden Tochterzellen besteht gelegentlich noch ein feiner Plasmafaden. Die Chromosomen jeder Zelle befinden sich im festen Dispirem, Kernmembran und Nucleolen sind noch nicht ausgebildet.

Von den fünf verschiedenen Knochenmarkproben wurden insgesamt 68 Ausstrichpräparate ausgewertet. Es wurden 71 025 Zellen mit 215 Mitosen differenziert, die dargestellt wurden in:

1. Reifungskurven, die die prozentuale Verteilung der einzelnen Zellen der roten und weißen Reihe während der verschiedenen Kulturzeiten angeben und einer Mittelwertskurve von allen fünf Fällen. (Abb. 1 - 6)
2. Dem zeitgerecht aufgetragenen Verhältnis der Granulopoese zur Erythropoese, dem G/E-Index. (Abb. 7, Tab. 1)
3. Mitose-Indices, d. i. Zahl der Mitosen pro 1000 teilungsfähiger Zellen der roten bzw. der weißen Reihe, die im Koordinatenkreuz in Abhängigkeit von der Bebrütungszeit aufgetragen werden. (Abb. 8, Tab. 2)
4. Karyologischen Kurven, welche die prozentuale Mitosephasen-Verteilung graphisch darstellen. (Abb. 9, Tab. 3)
5. Einer Tabelle, die große und kleine Retikulumzellen pro 1000 differenzierter Zellen zeitentsprechend enthält. (Abb. 10, Tab. 4)

Als Maßstab für eine Beurteilung gelten die von BOLL und MERSCH (7,8) zusammengestellten Normalwerte.

Bei den von uns untersuchten Sternalpunktaten handelt es sich in fast allen Fällen um normales oder nur wenig pathologisch verändertes Knochenmark. Im Einzelnen wurden folgende Patienten zur Punktion herangezogen:

1. Patient: Gertrud W., 67 Jahre, ambulant

Klinische Diagnose: Normochrome Anämie

Blutbild vom 27.1.1970

Hb	11 g%	Stab.	1 %
Ery	3,3 Mill./mm ³	Segm.	48 %
Hb _E	33,4 pg	Monoc.	11 %
Leukoc.	4500/mm ³	Lymphoc.	40 %
Ani	+	Thromb.	130 000/mm ³

Retic. 9 %

BSG 19/40, Harnstoff 46 mg %, Kreatinin 1,0 mg%.

Diagnose des Sternalpunktates: Annähernd normales Zellbild.

Drei Tage vor der Punktion wurde die Mesterolonggabe eingestellt, die Patientin bekam danach nur noch Raucombin^R, Complamin^R und Lanicor^R.

2. Patient: Margarete J., 60 Jahre, stationär

Klinische Diagnose: Osteosarkom, Diabetes mellitus

Blutbild vom 14.1.1970

Hb	14,1 g%	Stab.	3 %
Ery	4,04 Mill./mm ³	Segm.	67 %
Hb _E	31 pg	Monoc.	8 %
Leukoc.	4600/mm ³	Lymphoc.	22 %

Blutzucker nüchtern: 90 mg%

Diagnose des Sternalpunktates: Verdacht auf Plasmocytom oder Morbus Waldenström.

An Medikamenten erhielt die Patientin zum Zeitpunkt der Knochenmarkpunktion: 40E Depot-Insulin, Fortral^R, Valium^R, Itridal^R, Cibalgin^R.

3. Patient: Frida P., 74 Jahre, stationär

Klinische Diagnose: Dekompensierte Herzinsuffizienz,
absolute Arrhythmie, Zustand nach
Agranulocytose vor 2 Jahren.

Blutbild vom 28.1.1970

Hb	14,1 g%	Stab.	3 %
Ery	4,82 Mill./mm ³	Segm.	68 %
Hb _E	29,2 pg	Lymph.	21 %
Leukoc.	7300/mm ³	Monoc.	4 %
Aniso	(+)	Eos.	1 %
Thromb.	157 000/mm ³	Bas.	2 %

Atypische mononucleäre Zellen 1 %

Diagnose des Sternalpunktates: Unauffälliges Knochenmark.

Vor der Sternalpunktion erhielt die Patientin Lanicor^R,
Kalinor-Brausetabletten^R, Isoptin 80^R, Lasix^R.

4. Patient: Paul H, 60 Jahre, stationär

Klinische Diagnose: Pleuritis rheumatica re, chronische
Tonsillitis, Sinusitis maxillares
beidseitig und Sinusitis frontalis
rechts.

Blutbild vom 19.1.1970

Hämatokrit	40 %	Stab.	1 %
Hb	12 g%	Segm.	79 %
Ery	4,02 Mill./mm ³	Lymph.	9 %
Hb _E	29,8 pg	Eos.	3 %
Leukoc.	13 500/mm ³	Monoc.	8 %

Diagnose des Sternalpunktates: Normales Knochenmark.

Der Antistreptolysintiter war mit 1250 ASE/cm^3 erhöht, der Test auf C-reaktives Protein und der Latextest waren positiv.

Therapie zum Zeitpunkt des Sternalpunktates:

Lanicor^R, Perphyllon^R, Prednisolon, Salizell^R, Sol. Kali-Jodat, Tutofusin^R, Penicillin, Moronal^R, Pyramidon^R.

5. Patient: Elisabeth Sch., 74 Jahre, stationär

Klinische Diagnose: Anämie, Diabetes mellitus.

Blutbild vom 9.1.1970

Hb	12,8 g%	Stab.	2 %
Ery	3,70 Mill./mm ³	Segm.	68 %
Hb _E	34,7 pg	Lymph.	24 %
Leukoc.	4200/mm ³	Monoc.	4 %
		Eos.	2 %

Diagnose des Sternalpunktates: Normales Knochenmark

Medikamentöse Behandlung vor der Sternalpunktion:

Depot-Insulin Hoechst^R, Euglucon^R, Lanicor^R, Plastulen^R, Binotal^R, Cytobion^R.

Als Spender des Polyglobulieserums diente die

6. Patientin: Viktoria Z., 73 Jahre

Die Patientin ist uns seit 1953 mit erhöhten Werten des roten Blutbildes bekannt.

Blutbild vom 11.11.1969

Hb	18,2 g%	Segm.	55 %
Ery	5,49 Mill./mm ³	Monoc.	4 %
Hb _E	33,2 pg	Lymph.	29 %
Leukoc.	5700/mm ³	RES-Z.	2 %
Leichte Anisocytose und Polychromasie		Eos.	8 %
		Bas.	2 %
Thrombocyten	146 000/mm ³		
Harnstoff	29 mg%, Kreatinin	1,0 mg%	

Zum Zeitpunkt der Blutentnahme für die Serumgewinnung erhielt die Patientin Lanicor^R und Librium^R.

Zur Bestätigung der Diagnose 1953 und 1970 durchgeführte Sternalpunktionen sprachen gegen eine Polycythämia vera, andererseits konnte bei mehreren Lungen- und Kreislauf-funktionsprüfungen keine cardiopulmonale Insuffizienz verifiziert werden. Auch eine Nieren- oder eine Leber-erkrankung war nicht nachzuweisen, ebensowenig eine In-toxikation.

Eine Psychopathie mit suicidalen Tendenzen ist mit der hämatologischen Störung gekoppelt, wie sie auch von LAWRENCE und Mitarbeitern (35) und DAMESHEK (13) als Ursache solcher Polyglobulie bestätigt wird.

Signifikanzberechnung: (Siehe Tabelle 5)

Nach dem optischen Vergleich der Reifungskurven der differenzierten Zellformen erscheint das Abweichen der Versuchsergebnisse mit zugesetztem Polyglobulieserum von den mit Eigenserum angesetzten Kontrollen zufällig.

Zur Bestätigung wurde für die Erythropoese des zweiten Falles - hier entspricht die Verteilung der Zellarten am ehesten der Mittelwertskurve - eine Signifikanzberechnung nach dem χ^2 -Verfahren von H. Pearson durchgeführt.

Es bedeuten:

A = Zellzahl in den Kontrollkulturen

B = Zellzahl in den Kulturen mit Polyglobulieserum-Zusatz

Erwartungswert von A: $E_A = \frac{n_1}{n_3} \cdot (A+B)$

Erwartungswert von B: $E_B = \frac{n_2}{n_3} \cdot (A+B)$

$$n_1 = \sum_{i=1}^5 A_i ; \quad n_2 = \sum_{i=1}^5 B_i ; \quad n_3 = \sum_{i=1}^5 (A_i + B_i)$$

$$\chi^2_4 = \sum_{i=1}^5 \frac{(A_i - E_{A_i})^2}{E_{A_i}} + \sum_{i=1}^5 \frac{(B_i - E_{B_i})^2}{E_{B_i}}$$

Die p-Werte wurden den χ^2 -Tafeln von BELITZ (4) entnommen.

Ergebnisse:

Fall I, G. W. (Abb. 1)

A) Reifung der erythropoetischen und granulopoetischen Knochenmarkszellen in den Kulturen!

Betrachtet man die Reifungskurven, so fallen bei der Erythropoese nach 24 Std. und besonders nach 48 Std. Verschiebungen zu den reifen Zellformen auf. Die Abweichungen, die sich nach Zusatz von Polyglobulieserum ergeben, sind gering. Nach 24 Std. ist die Zellreifung hier etwas weiter fortgeschritten als in den Kontrollkulturen. Diese Tendenz hält bei 48 Std. an, es sind prozentual keine basophilen und keine Proerythroblasten mehr vorhanden.

Nach 72 Std. finden wir in der Versuchskultur nur noch reife Erythroblasten, in der Kontrolle steigt der Anteil der polychromatischen und oxyphilen Erythroblasten wieder etwas an, die nach 48 Std. verschwundenen Proerythroblasten treten aber auch hier nicht wieder auf.

Bei der Granulopoese nehmen unter Polyglobulieserumzusatz, ebenso wie in der Kontrolle nach einem Tag Promyelocyten und Myelocyten zu, während besonders der Anteil der stabkernigen aber auch der segmentkernigen Granulocyten zurückgeht. Die 48 Std.-Werte entsprechen ungefähr denen von 24 Std., nur nehmen die Promyelocyten etwas ab. Nach 72 Std. zeigt sich in der Kontrollkultur eine leichte Ausreifung, die in der Versuchskultur nicht vorhanden ist.

B) G/E-Indices: (Tab. 1)

Der G/E-Index im Myelogramm eines normalen menschlichen Sterna punktiates liegt zwischen 2,6 (ROHR, 49) und 3,4 (BOLL, 7). Hier ist er mit 1,95 typisch für eine Anämie.

Nach 24 Std. steigt der G/E-Index sowohl in der Kontrolle als auch im Versuch leicht an, sinkt nach 48 Std. gleichmäßig ab und erreicht dann nach 72 Std. seinen Höchstwert, der in der Kontrolle etwas größer ist als im Versuch.

C) Mitose-Indices: (Tab. 2)

Die Mitose-Indices der Erythropoese liegen nach 24 Std. dicht beieinander. Während im Versuch zu späteren Zeitpunkten keine Mitosen mehr gefunden werden, trat in der Kontrolle noch eine nach 48 Std. auf.

Bei der Granulopoese nimmt der Mitose-Index sowohl in der Kontrolle als auch im Versuch mit steigender Kulturzeit stetig und ohne bemerkenswerte Unterschiede ab und erreicht sein Minimum nach 72 Std. mit jeweils etwas mehr als 8 %.

Fall II, M.J. (Abb. 2)

A) Reifung der erythropoetischen und granulopoetischen Knochenmarkzellen in den Kulturen!

Bei Betrachtung der Reifung der Erythropoese in vitro zeigt sich in den Kontrollkulturen nach 24 Std. und noch stärker nach 48 Std. eine kräftige Verminderung aller teilungsfähigen Erythroblasten. Der Zusatz von Polyglobulieserum verändert die Reifungskurven kaum. Nach zwei Tagen ist der relative Anteil der reifen Erythroblasten etwas größer als in den Kulturen ohne Zusatz. Während in der Kontrolle die nach 24 Std. verschwundenen Proerythroblasten in geringem Umfang nach 48 Std. wieder auftreten, sind sie im Versuch, ebenso wie die basophilen und oxyphilen Erythroblasten, ab 48 Std. verschwunden. Die Anteile an polychromatischen Erythroblasten entsprechen praktisch denen in den Kontrollen. Die Unterschiede sind nicht signifikant! (Siehe Tab. 5, S. 37)

Bei der Granulopoese sieht man in der Polyglobulieserum-Zusatz-Kultur nach 24 Std. im Vergleich zu den Kontrollen

eine Vermehrung der segmentkernigen Neutrophilen. Nach 48 Std. sind jedoch weniger Segmentkernige als in den Kontrollkulturen vorhanden. Am 3. Tag der Kultivierung vermindert sich der Anteil der teilungsfähigen Granulocyten im Versuch etwas mehr als in der Kontrolle.

B) G/E-Indices: (Tab. 1)

Bei diesem Patienten sinkt der G/E-Index in der Kontrolle kontinuierlich ab und erreicht seinen Tiefstwert von 0,91 am Ende der Kulturzeit, während er im Zusatzversuch zu diesem Zeitpunkt wieder etwas ansteigt, ohne allerdings den 24 Std.-Wert ganz zu erreichen.

C) Mitose-Index: (Tab. 2)

Bei der Erythropoese sind im Versuch nur nach 24 Std. Mitosen zu finden, dagegen steigt der Mitoseindex in der Kontrolle nach zwei bzw. drei Tagen noch über den 24 Std.-Wert an.

Die Mitoseindices der weißen Reihe bleiben in Versuch und Kontrolle während der gesamten Kulturzeit etwa auf dem gleichen Niveau, nur der 72 Std.-Wert der Kontrolle als Minimum und der 48 Std.-Wert des Versuchs als Maximum fallen heraus.

Fall III, F. P. (Abb. 3)

A) Reifung der erythropoetischen und granulopoetischen Knochenmarkzellen in den Kulturen!

In den Reifungskurven der roten Reihe zeigt sich nach 24 und 48 Std. im Versuch, daß der Anteil der polychromatischen Erythroblasten größer ist, und zwar entsprechend der relativen Verminderung der reifen Erythroblasten, während die übrigen Verteilungen genau dem Kontrollpräparat gleichen. Nach 3 Tagen finden sich nur noch polychromatische, oxyphile und reife Erythroblasten, die Kontrollwerte können hier nicht mehr zur

Auswertung herangezogen werden, da die Präparate zu schlecht waren.

Bei der Granulopoese bleibt in den Versuchen die auch in der Kontrolle zu beobachtende übliche Zunahme der Promyelocyten nach 24 Std. aus, während die Myelocyten häufiger vorkommen. Nach zwei Tagen gleichen sich die Kontroll- und Versuchswerte noch etwas stärker an, am 3. Tag entsprechen die Verteilungskurven der Granulocyten bei Polyglobulieserum-Zusatz fast den von Boll (8) aufgestellten Normalwerten. (Vergleich zum Kontrollpräparat entfällt, s. o.)

B) G/E-Indices: (Tab. 1)

Der G/E-Index sinkt in diesem Fall zu Beginn der Kulturzeit stärker ab, wobei Kontrolle und Versuch kaum differieren. Nach 48 Std. steigen beide Werte etwas an. In der Polyglobulie-Kultur fällt der G/E-Index nach 72 Std. noch unter den 24 Std.-Wert.

C) Mitose-Indices: (Tab. 2)

Der rote Mitose-Index der Polyglobulieserum-Zusatz-Kultur ist nach 48 Std. dreimal so hoch wie nach 24 Std., fällt nach 3 Tagen aber auf Null. In der Kontrolle wird während der gesamten Kulturzeit keine Mitose gefunden.

In der weißen Reihe ist der Mitose-Index durch Zusatz von Polyglobulieserum zur Kultur kaum verändert.

Fall IV, P. H. (Abb. 4)

A) Reifung der erythropoetischen und granulopoetischen Knochenmarkzellen in den Kulturen!

Die Auswertung der Erythropoese nach 24 Std. ergibt mit Zusatz fast die gleichen Verhältnisse wie in der Kontrolle, nur daß dort die noch gering vertretenen oxyphilen Erythroblasten

prozentual nicht mehr erfaßt werden können. Das 48 Std.-Präparat bringt in der Polyglobulie-Kultur ein relatives Ansteigen der polychromatischen Erythroblasten. Nach 72 Std. sind die Verhältnisse wieder fast mit den Kontrollen identisch, da dort die vorher prozentual nicht mehr erfaßten Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten wieder auftreten.

Die Granulopoese zeigt zu Beginn der Bebrütung auch in den Ansätzen mit Polyglobulieserum die normale Zunahme teilungsfähiger Zellen. Eine leicht vermehrte Myelocytenzahl, besonders nach 48 Std., ist erkennbar. Die übrigen Versuchswerte entsprechen während der gesamten Kulturzeit den Kontrollen, ebenso wie die nach 48 Std. und noch mehr am Ende der Bebrütungszeit auftretende Tendenz zur Ausreifung der Zellen.

B) G/E-Indices: (Tab. 1)

Die G/E-Indices sinken nach 24 und 48 Std. in Kontrolle und Versuchskultur synchron ab und steigen am Ende wieder bis auf den 24 Std.-Wert an.

C) Mitose-Indices: (Tab. 2)

Bei diesem Patienten steigt der rote Mitose-Index in der Polyglobulie-Kultur stetig an, erreicht nach 72 Std. mit 50 ‰ die dreifache Höhe des 24 Std.-Wertes und ist damit der höchste Mitose-Index der gesamten Versuchsreihen.

In der Kontrolle waren demgegenüber nach 48 Std. und nach 72 Std. keine Mitosen mehr erkennbar.

Der weiße Mitose-Index nimmt mit steigender Kulturzeit ab, er liegt in den Polyglobulie-Versuchen durchweg unter den vergleichbaren Kontrollwerten.

Fall V, E. S. (Abb. 5)

A) Reifung der erythropoetischen und granulopoetischen
Knochenmarkzellen in den Kulturen!

Die Ausreifung der Erythropoese verläuft in diesem Fall nicht ganz so schnell wie bei den anderen. Nach Zusatz von Polyglobulieserum findet man nach 24 Std. einen etwas kleineren Anteil an polychromatischen Erythroblasten und einen größeren an reifen. Im übrigen bestehen kaum Abweichungen von den Kontrollkulturen. Nach 48 und besonders nach 72 stündiger Bebrütungszeit sinkt der Anteil der teilungsfähigen Zellen wie in den vorher beschriebenen Fällen ab. Zum Schluß treten weder Proerythroblasten noch basophile Erythroblasten prozentual in Erscheinung.

Bei der Granulopoese bewirkt das Zusetzen von Polyglobulieserum zur Kultur nach 24 Std. eine Vermehrung der Stabkernigen und der Promyelocyten, während der Anteil der Segmentkernigen gegenüber den Kontrollen zurückgeht. Das 48 Std.-Präparat weist vermindert Promyelocyten und prozentual entsprechend vermehrt Myelocyten auf, eine Tendenz, die sich nach 72 Std. noch verstärkt. Außerdem ist im Vergleich mit der Kontrolle eine stärkere Abnahme der segmentkernigen Myelocyten zu erkennen.

B) G/E-Indices: (Tab. 1)

Die G/E-Indices, die nach 24 Std. in der Polyglobuliekultur gegenüber dem Kontrollwert erniedrigt sind, stimmen nach 2 bzw. 3 Tagen fast mit diesen überein. In dieser Versuchsreihe ist ein ununterbrochenes Absinken der G/E-Indices von Beginn bis Ende der Kultivierungszeit zu beobachten.

C) Mitose-Indices: (Tab. 2)

In der roten Reihe treten bei diesem Patienten sowohl in der Kultur als auch in der Kontrolle nur nach 24 Std. Mi-

tosen auf, später sind keine mehr zu erfassen.

In der Granulopoese tritt der höchste Mitose-Index in der Polyglobuliekultur nach 24 Std. auf, sinkt dann ab und steigt erst nach 72 Std. wieder etwas an, während die Mitose-Indices der Kontrollen zwar in äquivalenter Höhe sind, ihr Minimum aber nach 72 stündiger Kulturzeit erreichen.

Eine Zusammenfassung der Reifungskurven aller fünf Patienten ist die Mittelwertskurve auf Abb. 6.

Die Erythropoese der gemittelten Originalausstriche zeigt fast völlige Übereinstimmung mit den von BOLL (7) zusammengestellten Normalwerten.

In der Granulopoese sind die Relativwerte für Promyelocyten und Metamyelocyten erniedrigt, während die der Myelocyten und segmentkernigen Neutrophilen entsprechend erhöht sind (8).

Bei der Erythropoese nehmen in den Polyglobulie-Versuchskulturen die unreifen Zellen mit fortschreitender Bebrütungsdauer ab, nach 48 Std. ist ihr Minimum erreicht, die Proerythroblasten werden prozentual nicht mehr erfaßt.

In den Kontrollversuchen sind die Verhältnisse entsprechend, ein minimaler Anstieg der oxyphilen Erythroblasten am Ende der Kultivierung verändert den Gesamteindruck nicht. Ihr Unterschied zu den nach Polyglobulieserum-Zusatz entstehenden Kurven beträgt maximal 2 %.

Die Granulopoese zeigt nach dem 1. Kulturtag mit Polyglobulieserum im Mittel aller Versuche eine Linksverschiebung, die nach 48 Std. wieder abklingt. Nach 3 Tagen gleicht die Differentialverteilung der Zellen ziemlich der des Originalausstriches. Stabkernige, Neutrophile, Jugendliche und auch Promyelocyten gehen unter ihre Ausgangswerte zurück. Es lassen sich keine wesentlichen Abweichungen von den Kontrollwerten erkennen, die maximale Divergenz liegt während der dreitägigen Bebrütungsdauer bei 4 %.

Zusammenfassung der G/E-Indices: (Tab. 1, Abb. 7)

Nach der Kultivierung mit Polyglobulieserum sinkt der G/E-Index nach 24 Std. ab, nur der erste Fall zeigt einen erhöhten Wert. Diese Tendenz hält auch nach 48 Std. an, hier liegt nur beim dritten Patienten der G/E-Index höher als nach 24 Std., bleibt aber unter dem Ausgangswert. Am Ende der Bebrütung steigen bei drei Patienten die Zahlen wieder an und übertreffen in einem Fall sogar den Wert des Originalausstriches, bei zwei Patienten sinken sie noch weiter ab.

Auch in der Kontrollkultur ohne Polyglobulieserum-Zusatz bleibt dieser Verlauf erhalten!

Die Berechnung der G/E-Indices aller Patienten (arithmetisches Mittel) verdeutlicht die Feststellung, daß nach kürzerer und mittlerer Bebrütungsdauer das Verhältnis weiße Knochenmarkzellen : rote Knochenmarkzellen sich zugunsten der roten verschiebt, sich aber nach drei Tagen wieder dem 24 Std.-Wert nähert. (7,8)

Wie aus dem Diagramm in Abb. 7 ersichtlich ist, weicht die Mittelwertkurve der G/E-Indices der Polyglobulie-Kulturen praktisch nicht von der der Kontrollen ab.

Zusammenfassung der Mitose-Indices (Tab. 2, Abb. 8)

In der Erythropoese liegen die mittleren Mitose-Indices des Originalausstriches bei 20 %. Sie sinken während der Kultivierungszeit in Polyglobulie-Kultur und Kontrollkultur annähernd synchron ab und erreichen nach 72 Std. ihren niedrigsten Wert, der im Versuch bei 6 %, in der Kontrolle bei 10 % liegt. Diese Diskrepanz kann, ebenso wie die Unterschiede innerhalb der einzelnen Versuchsreihen, aus der Ver-

arbeitung zu geringer Mitosezahlen erklärt werden.

Der mittlere Mitose-Index der Granulopoese liegt im direkten Ausstrich bei 13 %, wird in der Kultur mit steigender Bebrütungsdauer niedriger und erreicht sein Minimum nach 72 Stunden mit ca. 4 %. Die einzelnen Werte stimmen mit denen der Kontrollen fast überein.

Mitosephasenverteilung: (Tab. 3, Abb. 9)

Die Verteilung der Mitosephasen wird in den karyologischen Kurven dargestellt, auch wieder getrennt für Erythropoese und Granulopoese. Da die Zahlen zu klein sind, werden alle Mitosen der Zusatz-Kulturen zusammengefaßt und mit denen der Kontrollen und der Originalpräparate verglichen. Auch hier sind die Differenzen so gering, daß daraus nicht auf eine Wirkung durch das Polyglobulieserum geschlossen werden kann.

Retikulumzellen: (Tab. 4, Abb. 10)

Die Anzahl der Retikulumzellen weist innerhalb der einzelnen Fälle größere Unterschiede sowohl zwischen den einzelnen Kulturzeiten als auch zwischen Kultur mit Polyglobulieserum-Zusatz und Kontrollkultur auf.

Die errechneten Mittelwerte zeigen für die großen Retikulumzellen ein Absinken nach 24 Std. und noch weiter nach 48 Std., aber nach 72 Std. einen Anstieg über den 24 Std.-Wert hinaus. In den Kontrollwerten sind die Verhältnisse entsprechend.

Die ebenfalls in Promille angegebenen Mittelwerte der kleinen Retikulumzellen steigen nach 24 Std. auf 41 ‰ an und bleiben während der gesamten Kulturzeit fast konstant. Im Kontrollversuch liegt der 24 Std.-Wert etwas höher, sinkt dann unter den vergleichbaren Polyglobulieserum-Wert ab, den er auch nach 72 Std. nicht ganz erreicht.

Die phagocytierenden Retikulumzellen nehmen im Mittel mit und ohne Polyglobulieserum-Zusatz mit steigender Kulturzeit zu und erreichen nach 72 Std. ein Maximum von 20 %.

Morphologische Zellveränderungen:

Bei der Differenzierung der Kulturausstriche fielen uns an morphologischen Veränderungen gegenüber den Originalausstrichen auf:

1. In der Erythropoese treten bisweilen Zellen mit einem pyknotischen, gänseblümchenähnlich geformten Kern auf, ihr Plasma ist polychromatisch bis oxyphil, in der Größe entsprechen sie ungefähr den reifen Erythroblasten.
2. Unter den Myelocyten gibt es einige mit toxischer Granulation, manchmal ähnlich dem eosinophilen Myelocyten.

Die geschilderten Veränderungen treten sowohl in den mit Polyglobulieserum versetzten Kulturen als auch in den Kontrollen auf, ohne eine Häufigkeitsverschiebung erkennen zu lassen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die erythropoetischen und granulopoetischen Reifungskurven der einzelnen Knochenmarkkulturen mit zugesetztem Polyglobulieserum stimmen während der 72 Std. Bebrütungszeit im wesentlichen überein mit den graphischen Darstellungen der mit Elgenserum angesetzten Kontrollkulturen. Die für die Erythropoese im Fall 2 angestellten Signifikanzberechnungen zeigen, daß die geringen Abweichungen zufällig sind.
Die Mittelwertkurve verdeutlicht diese Tendenz noch.
2. Die mittleren G/E-Indices nach 24 und 72 Std. sind in der Kontrolle leicht höher und nach 48 Std. minimal kleiner als in der Polyglobulie-Kultur. Eine Wirkung des Polyglobulieserums auf den G/E-Index ist daraus nicht herzuleiten.

3. Die zusammengefaßten Mitose-Indices von Kontrollkulturen und von Kulturen mit zugesetztem Polyglobulieserum liegen bei der roten Reihe während der ersten 48 Std. dicht beieinander, die Differenz im 72 Std.-Wert ist ohne Bedeutung, da sie nur auf einem Fall beruht.

Bei den mittleren Mitose-Indices der weißen Reihe ist zu keinem der drei Versuchszeitpunkte ein deutliches Abweichen von den Kontrollen zu erkennen.

Die Werte sind niedriger als in der Erythropoese und nehmen - ebenso wie dort - mit längerer Bebrütungszeit weiter ab.

4. Die karyologischen Kurven weichen nicht sicher voneinander ab, zumal die einzelnen Mitosephasen-Zahlen sehr gering sind. Die Tendenz zu einem Maximum bei der späten Metaphase ist sowohl bei der Erythropoese als auch bei der Granulopoese in Versuch und Kontrolle gleich und entspricht den Angaben von BOLL (7,8).
5. Die in große, kleine und phagocytierende unterteilten Retikulumzellen zeigen im Mittel im Polyglobulie-Versuch die gleiche Häufigkeitsverteilung wie in der Kontrolle. Große und phagocytierende Retikulumzellen sind nach drei Tagen häufiger zu finden, der Anteil der kleinen bleibt etwa konstant.
6. Eine Häufung oder Minderung von morphologischen Zellver-
änderungen oder undifferenzierbaren Zellen nach Polyglobulieserum-Zusatz konnte nicht festgestellt werden.

DISKUSSION

Untersuchungen über die Einwirkung von menschlichem Polyglobulieserum auf menschliches Knochenmark *in vitro* sind uns nicht bekannt. Die in der Literatur angegebenen, Erythropoetin betreffenden Versuche sind zum größten Teil *in vivo* durchgeführt. Als Versuchsobjekte dienten - ausgenommen bei ASTALDI (2) und KORST (24) - Tiere. Deshalb ist ein Vergleich mit unseren Untersuchungen schwer möglich, zumal wir weder Sauerstoffmangel noch eine der anderen häufigeren und im Tierversuch imitierbaren Ursachen der Polyglobulie vorliegen haben.

Die von uns angewandte Konzentration des Polyglobulieserums im Kulturmedium von 0,4 ml / 1 ml erscheint ausreichend, wenn man z. B. den Ansatz von FRIEDERICI und GERSMEYER (19) betrachtet, deren Kulturmedium zu gleichen Teilen aus Blutplasma, Hühnerembryonalextrakt, einer physiologischen Salzlösung und dem zu prüfenden Serum bestand und positive Resultate ergab.

Da in unseren Versuchen Serum, Plasma und Knochenmark von Menschen verwandt wurde, ist die Entstehung eines Erythropoetin-Antiserums, das die Erythropoetinwirkung neutralisieren könnte, wie es LANGE et alii (31), SCHOOLEY und Kollegen (52) oder auch KRUGERS-DAGNEUX (26) beschreiben, ausgeschlossen.

An den Ergebnissen mit und ohne Polyglobulieserum-Zusatz fällt das starke Absinken der teilungsfähigen roten Markzellen auf. Diese nach 24 und besonders nach 48 Std. kräftig beschleunigte Ausreifung liegt weit über den von BOLL (7) angegebenen Mittelwerten. Auch der 72 Std.-Wert liegt außerhalb jener Norm.

Der in Kontroll- und Zusatzkulturen etwa gleichwertige Abfall der G/E-Indices nach 24 und 48 Std. deutet in Zusammenhang mit der Zunahme der reifen Erythroblasten auf deren verzögerte Entkernung in vitro hin. Das leichte Ansteigen der G/E-Indices nach 72 Std. beruht nach BOLL (7) wahrscheinlich auf einer später einsetzenden Ausreifung der Erythroblasten zu Erythrocyten.

Bei der Granulopoese ist in Kontroll- und Polyglobulie-Kultur die Vermehrung der Promyelocyten und der Myelocyten bemerkenswert, die dann nach 48 Std. und noch mehr nach 72 Std. zu Segmentkernigen ausreifen, wie es auch die normale Granulopoese tut. (6,8)

Die mittlere Häufigkeitsverteilung der drei Gruppen von Retikulumzellen entspricht in den Kulturen mit Polyglobulieserum etwa der der Kontrollen. Auffällig sind die Unterschiede innerhalb der einzelnen Fälle zu den verschiedenen Zeitpunkten, die wohl auf das Mitzählen von "Retikulumzellnestern" zurückzuführen sind und keine Schlüsse auf eine Wirkung des Polyglobulieserums zulassen. Auch die gegenüber BEGEMANN (3) erhöhten Werte können so erklärt werden.

Die geringen Unterschiede der Zellregeneration zwischen Kontroll- und Polyglobulieserum-Zusatz-Kulturen weisen weder auf eine stimulierende noch auf eine hemmende Wirkung des zugesetzten Fremdserums hin. Fassen wir alle Parameter zusammen, so können wir sagen, daß sich nach Zusatz von Serum unserer Polyglobulie-Patientin zu der Kultur kein Beweis für einen Einfluß auf die Proliferation und Morphologie der fünf von uns untersuchten Knochenmarkproben ergibt.

Daraus folgt, daß ein die Hämatopoese oder besser die Erythropoese anregender Stoff im Serum unserer Polyglobulie-Kranken mit der von uns angewandten Versuchsanordnung nicht nachzuweisen ist.

Auch ein alieno loco nach den Methoden von WOLTERS (59) durchgeführter Test zur Bestimmung der Erythropoetinaktivität verlief bei dieser Patientin negativ. Es wäre falsch, unser Ergebnis zu verallgemeinern, nicht zuletzt wegen der einleitend beschriebenen zahlreichen Arten der Polyglobulie. So konnte ELSOLD (14) mit derselben Methode wie wir im Serum eines Patienten mit renal bedingter Polyglobulie und erhöhtem Erythropoetintiter einen erythropoesestimulierenden Effekt nachweisen. Auch FRIEDERICI und GERSMEYER (19) sowie REISNER (45) kamen in ähnlichen Versuchen zu positiven Ergebnissen. Daraus kann man schließen, daß eine die rote Knochenmarkzellproduktion stimulierende Wirkung eines Serums dann vorhanden ist, wenn dieses Serum auch einen erhöhten Erythropoetin-Titer hat.

Eine Klärung des etwas unbefriedigend in die "stress erythrocytosis" einzureihenden Krankheitsbildes der Serumspenderin konnte durch die Prüfung der Knochenmark-Proliferation in vitro genausowenig erbracht werden, wie durch die Erythropoetin-Bestimmung an der hyperglobulen Maus, die wir Prof. WOLTERS, Klinikum Steglitz, verdanken.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirkung eines Polyglobulieserums ohne nachweisbaren Erythropoetingehalt auf menschliches Knochenmark von fünf verschiedenen Patienten wurde in vitro untersucht. Nach 24, 48, 72 Std. wurden Ausstrichpräparate angefertigt, von denen je 2000 Zellen differenziert und die Mitosen klassifiziert, der Mitose- und G/E-Index bestimmt und Reifungskurven gezeichnet wurden. Die Mitosehäufigkeit, Mitosephasenverteilung und den G/E-Index stellten wir, ebenso wie die Reifungskurven, auch in Mittelwertkurven dar.

Als Kontrolle dienten Ausstriche von Kulturen, die nur mit dem analogen Serum des Patienten angesetzt waren.

Nach Zusatz von Serum eines Polyglobulie-Kranken ohne meßbare Erythropoetin-Aktivität kommt es zu keiner signifikanten Änderung der Proliferationsaktivität oder zu morphologischen Veränderungen des Knochenmarkes in vitro!

Tabelle 1 (G/E-Indices)

	Std	G.W.	M. J.	F. P.	P.H.	E.S.	Summe	Mittel
K O N T R O L L E N	0	1,95	2,20	4,50	4,22	3,89	16,76	3,35
	24	2,27	1,21	1,89	3,06	3,54	11,97	2,4
	48	1,64	0,96	2,15	2,46	2,39	9,60	1,92
	72	2,83	0,91	3,20	2,95	1,76	11,65	2,33

P G - V E R S U C H E	24	2,17	1,46	2,00	2,88	2,93	11,44	2,29
	48	1,67	0,98	2,52	2,47	2,22	9,86	1,97
	72	2,25	1,19	1,89	2,98	1,76	10,07	2,1

Tabelle 2 (Mitose-Indices)

a) Erythropoese

	Std	G.W.	M.J.	F.P.	P.H.	E.S.	Summe	Mittel
K O N T R O L L E N	0	19,70	18,45	13,83	22,50	22,60	97,08	19,5
	24	14,50	9,35	---	37,80	17,40	79,05	15,8
	48	34,50	32,20	---	---	---	66,70	13,3
	72	---	27,80	---	---	---	27,80	5,6
V E R S U C H E	24	15,60	18,20	12,35	15,60	18,30	80,05	16,0
	48	---	---	35,80	27,80	---	63,60	12,7
	72	---	---	---	50,00	---	50,00	10,0

b) Granulopoese

	Std	G.W.	M.J.	F.P.	P.H.	E.S.	Summe	Mittel
K O N T R O L L E N	0	13,35	12,50	10,80	14,30	12,50	63,45	12,7
	24	11,30	6,30	7,60	11,02	7,70	43,92	8,8
	48	8,70	6,95	5,65	8,10	6,95	36,35	7,3
	72	8,30	3,00	---	6,30	6,60	24,20	4,9
V E R S U C H E	24	11,40	5,50	7,40	6,67	9,00	39,97	8,0
	48	10,20	8,05	6,90	4,15	6,77	36,07	7,2
	72	8,10	4,95	5,40	1,62	7,10	27,17	4,3

Tabelle 3 (Mitosephasenverteilung in %)

a) Erythropoese

	Phase	G.W.	M.J.	F.P.	P.H.	E.S.	Summe	Mittel%
KONTROLL- E	P	-/2	1/2	-/1	-/2	1/3	2/10	22/31
	fM	1/3	1/1	-/1	-/1	-/1	2/7	22/22
	sM	1/4	1/2	-/2	1/2	1/2	4/12	45/38
	A	-/-	-/-	-/-	1/-	-/1	1/1	11/3
	T	-/1	-/1	-/-	-/-	-/-	-/2	-/6
	R	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	G	2/10	3/6	-/4	2/5	2/7	9/32	100/100
P G- V E R S U C H E	P	-	-	-	1	1	2	20
	fM	-	-	1	1	-	2	20
	sM	1	1	1	-	1	4	40
	A	-	-	-	-	-	-	-
	T	-	-	-	1	-	1	10
	R	-	1	-	-	-	1	10
	G	1	2	2	3	2	10	100

b) Granulopoese

	Phase	G.W.	M.J.	F.P.	P.H.	E.S.	Summe	Mittel%
KONTROLL- E	P	5/2	-/1	2/2	1/2	4/2	12/9	21/24
	fM	5/2	-/2	4/2	6/3	4/3	19/12	34/31
	sM	5/2	-/2	3/3	10/4	5/3	23/14	41/37
	A	-/-	-/-	1/1	-/1	-/-	1/2	2/5
	T	-/1	-/-	-/-	1/-	-/-	1/1	2/3
	R	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	G	15/7	-/5	10/8	18/10	13/8	56/38	100/100
P G- V E R S U C H E	P	3	-	1	5	2	11	19
	fM	8	1	6	1	4	20	36
	sM	5	2	6	3	6	22	39
	A	-	2	-	-	-	2	4
	T	-	-	-	1	-	1	2
	R	-	-	-	-	-	-	-
	G	16	5	13	10	12	56	100

P = Prophase, fM = frühe Metaphase, sM = späte Metaphase,
 A = Anaphase, T = Telophase, R = Rekonstruktionsphase,
 G = Gesamtzahl

Tabelle 4 (Retikulumzellen in promille)

	Std.	G.W.			M.J.			F.P.			P.H.			E.S.			Mittelwerte		
		GR	KR	PR	GR	KR	PR	GR	KR	PR	GR	KR	PR	GR	KR	PR	GR	KR	PR
K	0	118	19	6	341	34	17	76	20	0	156	42	2	86	43	2	159	31	5
O	24	120	70	16	139	79	22	69	23	5	56	29	9	41	25	10	84	45	12
N	48	68	41	20	92	39	15	59	26	13	71	48	16	76	38	16	73	38	16
T	72	96	42	24	88	56	17	--	--	--	111	30	23	53	31	18	89	40	20
R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C																			
L																			
L																			
E																			
N																			
-																			
F																			
G																			
-																			
V	24	93	41	4	101	45	11	74	52	9	43	35	16	92	29	13	80	41	11
E	48	52	17	8	65	75	5	84	41	4	85	39	16	101	32	28	78	41	12
R	72	108	51	30	91	46	10	92	47	18	76	45	28	82	25	16	90	43	20
S																			
U																			
C																			
H																			
E																			

GR = Große Retikulumzelle

KR = kleine Retikulumzelle

PR = Phagocytierende Retikulumzelle

Tabelle 5 (Signifikanzberechnung)

t = 24 Stunden

	PE	bE	pE	oE	rE	Summe
A	1	15	83	8	365	472
B	7	22	67	14	369	479
A + B	8	37	150	22	734	951
E_A	4,0	18,5	75,00	11,0	367,0	
E_B	4,0	18,5	75,00	11,0	367,0	
$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	2,25	0,66	0,85	0,82	0,01	4,59
$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$	2,55	0,66	0,85	0,82	0,01	4,59

$\chi^2_4 = 9,18 \rightarrow p \ 0,05 \rightarrow$ Die Differenz zwischen
beiden Reihen ist zufallsbedingt!

t = 48 Stunden

	PE	bE	pE	oE	rE	Summe
A	3	10	16	2	732	763
B	1	2	5	2	627	637
A + B	4	12	21	4	1359	1400
E_A	2,2	6,6	11,55	2,2	747,45	
E_B	1,8	5,4	9,45	1,8	611,55	
$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	0,29	1,75	1,71	0,02	0,32	4,09
$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$	0,29	2,14	2,05	0,02	0,39	4,89

$\chi^2_4 = 8,98 \rightarrow p \ 0,05 \rightarrow$ Die Differenz zwischen
beiden Reihen ist zufallsbedingt!

t = 72 Stunden

	PE	bE	pE	oE	rE	Summe
A	4	4	17	11	743	779
B	2	2	12	2	448	466
A + B	6	6	29	13	1191	1245
E_A	3,78	3,78	18,27	8,19	750,33	
E_B	2,22	2,22	10,73	4,81	440,67	
$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	0,02	0,02	0,09	0,96	0,06	1,15
$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$	0,02	0,02	0,15	1,64	0,10	1,93

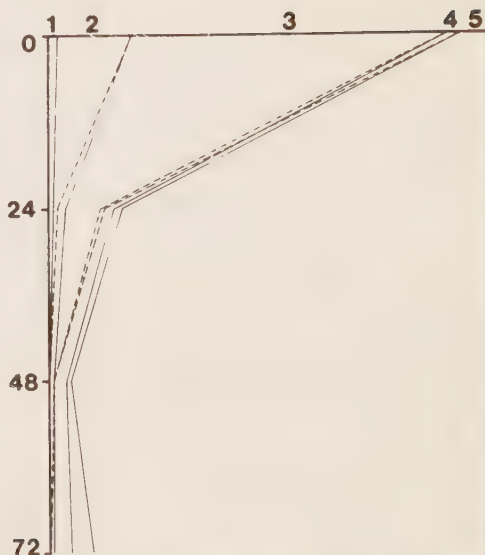
$\chi^2_4 = 3,08 \rightarrow p \ 0,05 \rightarrow$ Die Differenz zwischen
beiden Reihen ist zufallsbedingt!

Abb. 1 (Reifungskurven, G.W.)

Kontrolle —————
PG - Serum - - - - -

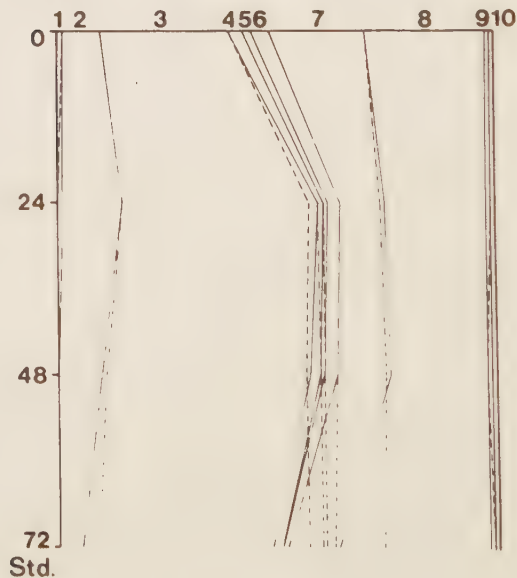
a) ERYTHROPOESE

- 1 = PE
- 2 = bE
- 3 = pE
- 4 = oE
- 5 = rE



b) GRANULOPOESE

- 1 = MB
- 2 = PM
- 3 = MC
- 4 = eMC
- 5 = PMo
- 6 = MM
- 7 = Stab
- 8 = Seg
- 9 = eSeg
- 10 = Mo



Abszisse: Prozentualer Anteil der einzelnen Reifungsstufen der Erythropoese bzw. Granulopoese, addierend aufgetragen.

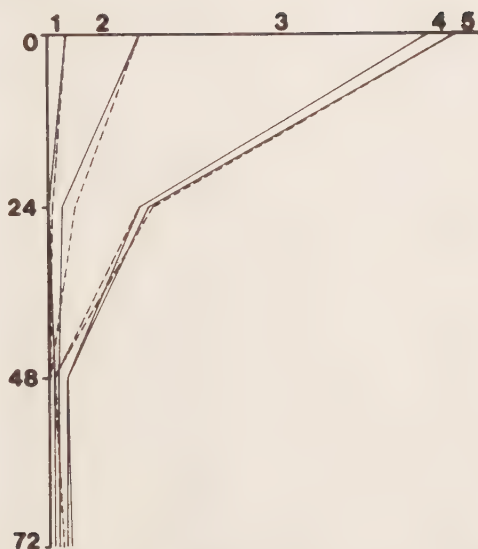
Ordinate: Inkubationszeit der Kulturen in Stunden.

Abb. 2 (Reifungskurven, M.J.)

Kontrolle ———
PG - Serum - - - -

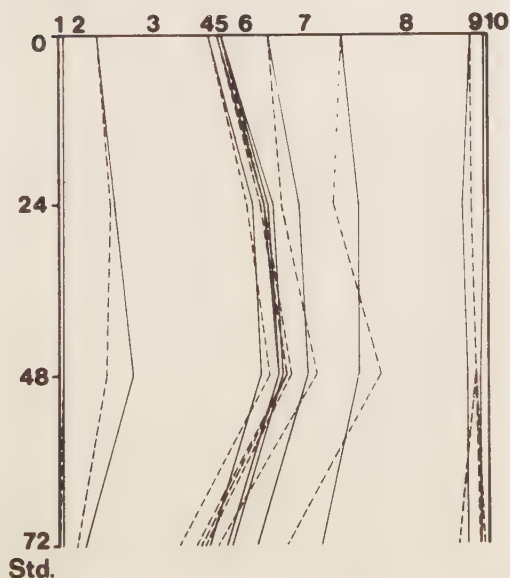
a) ERYTHROPOESE

- 1 = PE
- 2 = bE
- 3 = pE
- 4 = oE
- 5 = rE



b) GRANULOPOESE

- 1 = MB
- 2 = PM
- 3 = MC
- 4 = eMC
- 5 = PMo
- 6 = MM
- 7 = Stab
- 8 = Seg
- 9 = eSeg
- 10 = Mo



Abszisse: Prozentualer Anteil der einzelnen Reifungsstufen der Erythropoese bzw. Granulopoese, addierend aufgetragen.

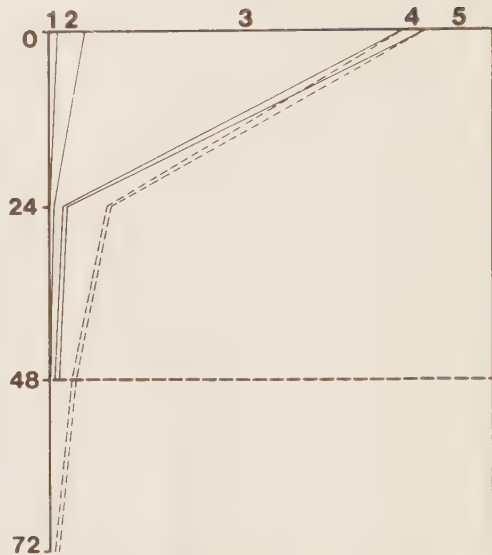
Ordinate: Inkubationszeit der Kulturen in Stunden.

Abb. 3 (Reifungskurven, F.P.)

Kontrolle ———
PG - Serum - - - -

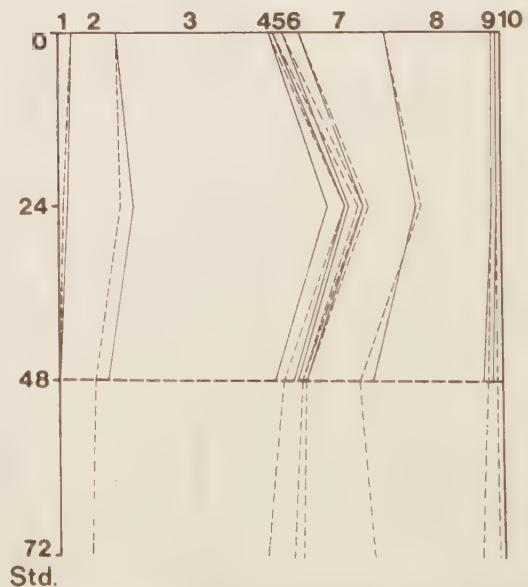
a) ERYTHROPOESE

- 1 = PE
- 2 = bE
- 3 = pE
- 4 = oE
- 5 = rE



b) GRANULOPOESE

- 1 = MB
- 2 = PM
- 3 = MC
- 4 = eMC
- 5 = PMo
- 6 = MM
- 7 = Stab
- 8 = Seg
- 9 = eSeg
- 10 = Mo



Abszisse: Prozentualer Anteil der einzelnen Reifungsstufen der Erythropoese bzw. Granulopoese, addierend aufgetragen.

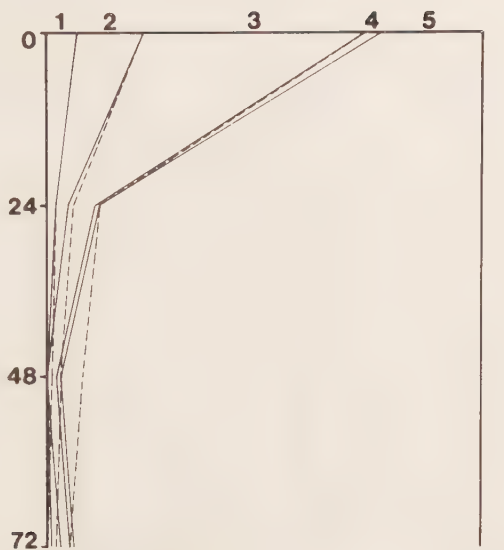
Ordinate: Inkubationszeit der Kulturen in Stunden.

Abb. 4 (Reifungskurven, P.H.)

Kontrolle ———
PG - Serum - - - - -

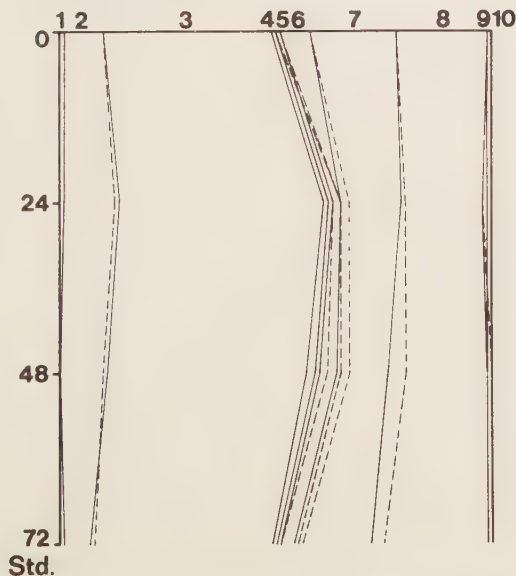
a) ERYTHROPOESE

- 1 = PE
- 2 = bE
- 3 = pE
- 4 = oE
- 5 = rE



b) GRANULOPOESE

- 1 = MB
- 2 = PM
- 3 = MC
- 4 = eMC
- 5 = PMo
- 6 = MM
- 7 = Stab
- 8 = Seg
- 9 = eSeg
- 10 = Mo



Abszisse: Prozentualer Anteil der einzelnen Reifungsstufen der Erythropoese bzw. Granulopoese, addierend aufgetragen.

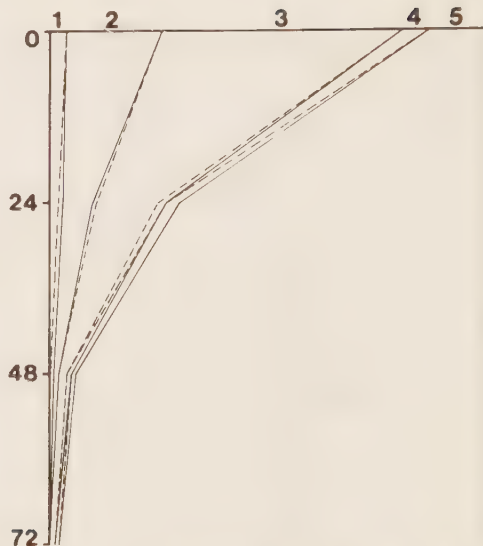
Ordinate: Inkubationszeit der Kulturen in Stunden.

Abb. 5 (Reifungskurven, E.S.)

Kontrolle ———
PG - Serum - - - -

a) ERYTHROPOESE

- 1 = PE
- 2 = bE
- 3 = pE
- 4 = oE
- 5 = rE



b) GRANULOPOESE

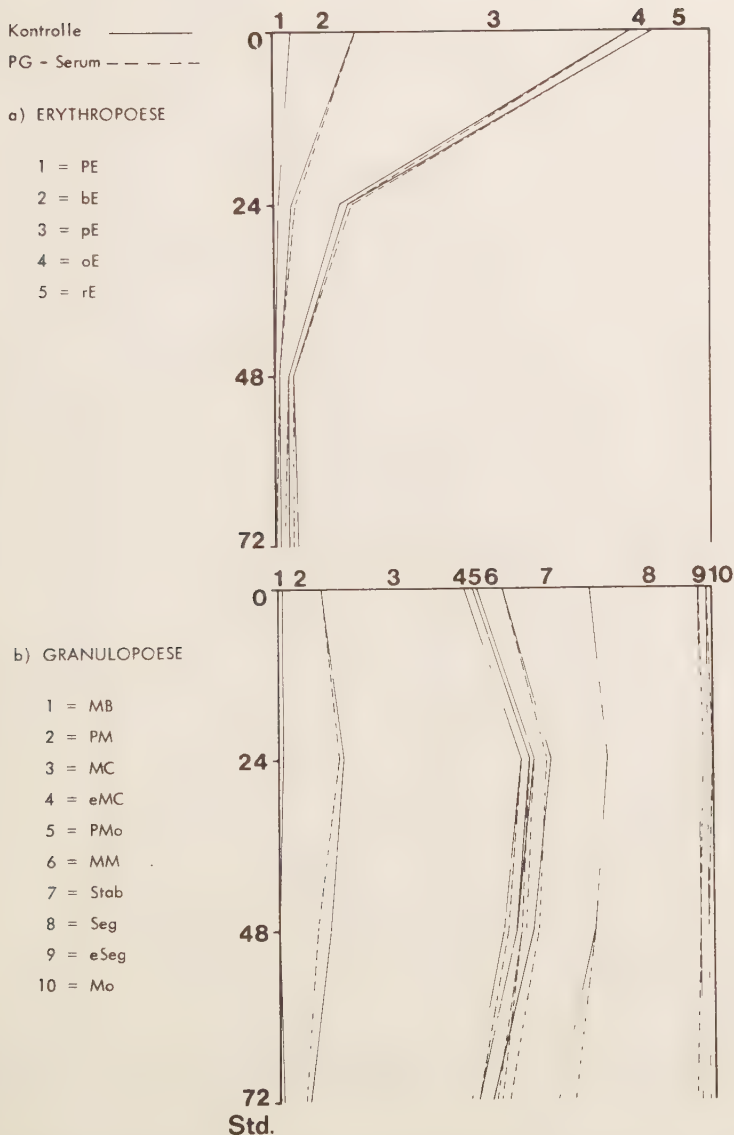
- 1 = MB
- 2 = PM
- 3 = MC
- 4 = eMC
- 5 = PMo
- 6 = MM
- 7 = Stab
- 8 = Seg
- 9 = eSeg
- 10 = Mo



Abszisse: Prozentualer Anteil der einzelnen Reifungsstufen der Erythropoese bzw. Granulopoese, addierend aufgetragen.

Ordinate: Inkubationszeit der Kulturen in Stunden.

Abb. 6 (Reifungskurven, mittlere)



Abszisse: Prozentualer Anteil der einzelnen Reifungsstufen der Erythropoese bzw. Granulopoese, addierend aufgetragen.

Ordinate: Inkubationszeit der Kulturen in Stunden.

Abb. 7 (Mittlere G/E - Indices)

Kontrolle —————
PG - Serum - - - - -

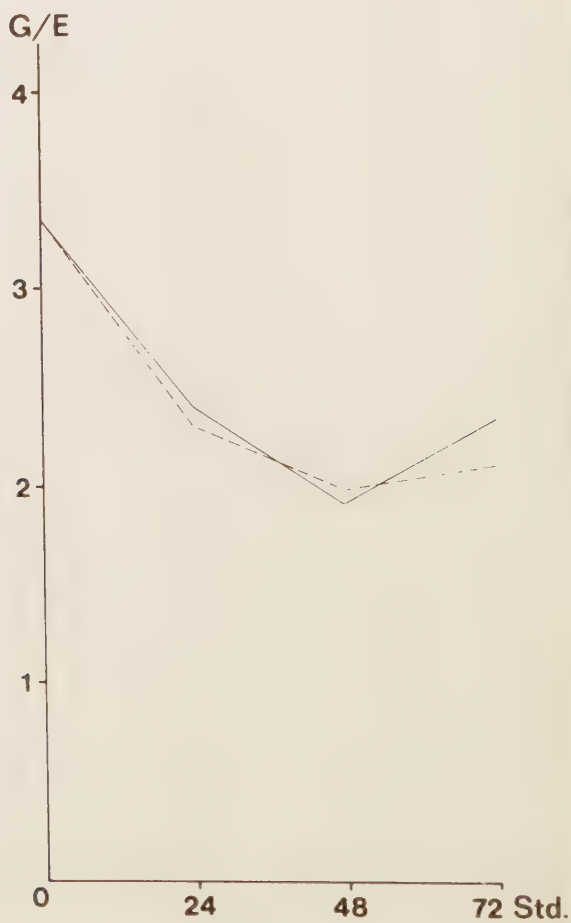
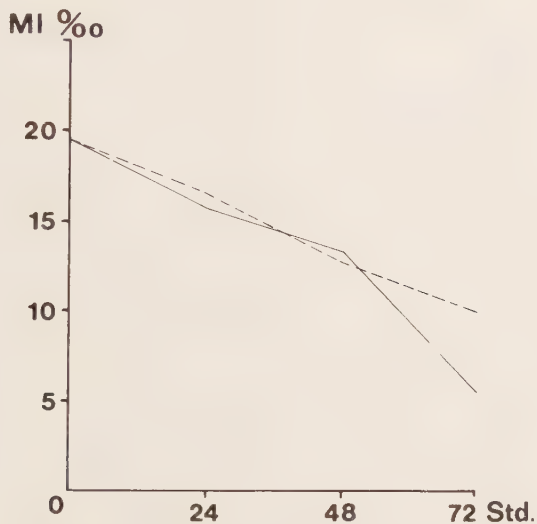


Abb. 8 (Mittlere Mitose - Indices)

Kontrolle ———
PG - Serum - - - - -

a) ERYTHROPOESE



b) GRANULOPOESE

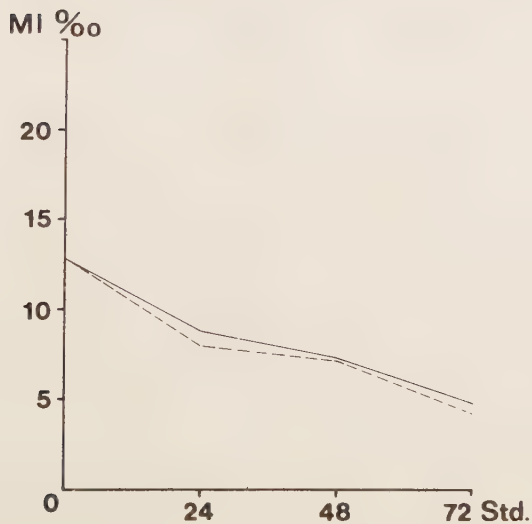
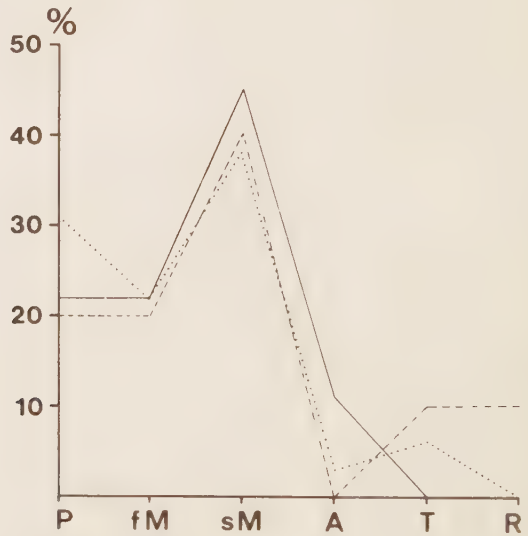


Abb. 9 (Mittlere Mitosephasenverteilung)

Kontrolle —————
PG - Serum - - - - -
Original ······

a) ERYTHROPOESE



b) GRANULOPOESE

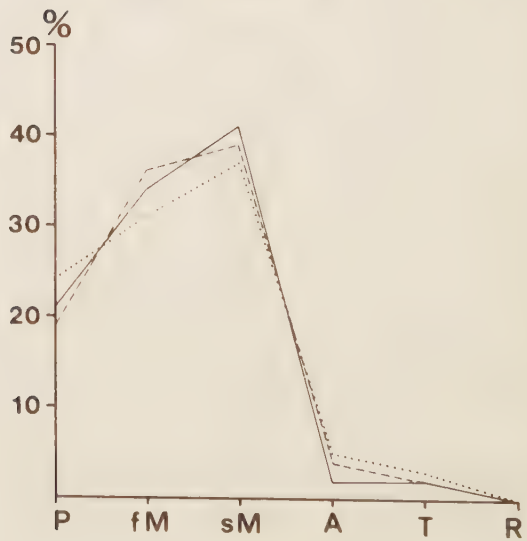


Abb. 10 (Retikulumzellen)

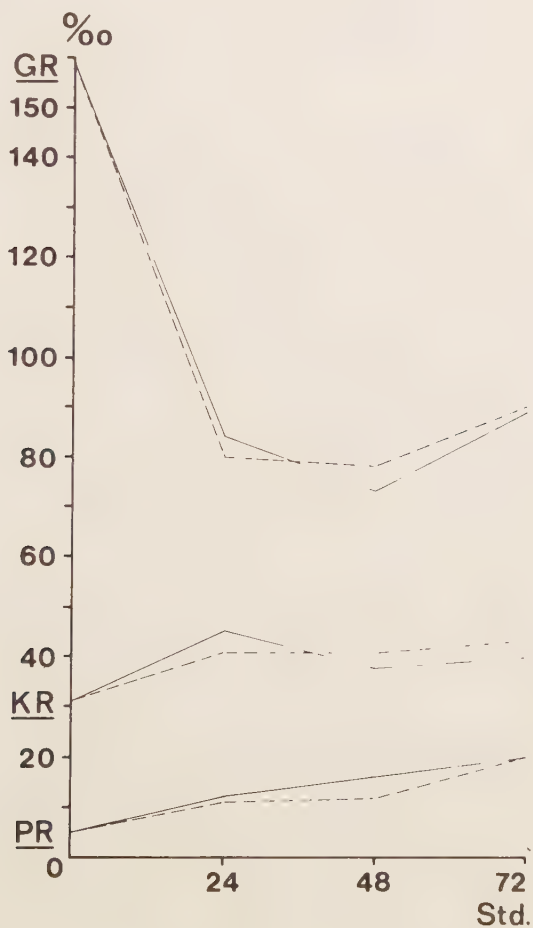
Kontrolle —————

PG - Serum - - - - -

GR = Große Retikulumzelle

KR = Kleine Retikulumzelle

PR = Phagocytierende Retikulumzelle



LITERATURVERZEICHNIS

1. ALPEN, E.L. : Observations on the regulation of
and D. CRANMORE erythropoiesis and on cellular dy-
namics by Fe⁵⁹ autoradiography.
In: The Kinetics of Cellular Pro-
liferation, 290 Ed. F. Stohman, jr.:
Grune and Stratton, New York 1959
2. ASTALDI, G., : Prime ricerche sull'attività prolifera-
E. BERNADELLI, tiva dell'eritroblasto in depressio-
G. REBAUDO ne.
Boll. Soc. Ital. Emat 1, 98 (1951)
3. BEGEMANN, H. : Klinische Hämatologie.
384, Georg Thieme Verlag - Stuttgart
(1970)
4. BELITZ, H. : Sonderdruck aus: Der Mathematik-
unterricht
Ernst Klett Verlag, Stuttgart,
Heft 3 (1960)
5. BOLL, I. und : Vereinfachtes Verfahren zur kurz-
G. FUCHS fristigen Kultivierung von mensch-
lichem Knochenmark in vitro.
Blut VII, 257 (1961)
6. BOLL, I. : Granulocytopoese unter physiologi-
schen und pathologischen Bedin-
gungen.
Springer Verlag, Berlin - Heidel-
berg - New York (1966)
7. BOLL, I. und : Morphologische Untersuchungen zur
G. MERSCH Proliferationskinetik der normalen
und pathologischen Erythropoese
in vitro.
Blut XVII, 193 (1968)

8. BOLL, I. und : Morphologische Untersuchungen zur
G. MERSCH Proliferationskinetik der normalen und
pathologischen Granulopoese in vitro.
Blut XIX, 257 (1969)
9. BONSDORF, E. und: A humoral mechanism in anoxic erythro-
E. JALAVISTO cytosis.
Acta physiol. scand. 16, 734 (1954)
10. BRECHER, G. und : Humoral factors in erythropoiesis.
F. STOHLMAN jr. In: L. Trocantins ed.: Progress in
Hematology Vol. 2, New York, Grune and
Stratton, Inc. (1959)
11. BYRON, J. und : Estimation of Haematopoetic Stem Cells
L. LAJTHA with Erythropoietin: A Consideration
of Dose-Response Curves.
Brit. J. Haemat. 15, 47 (1968)
12. CASTRILLON-OBBERNDORFER, W.:
Differentialdiagnose zwischen Polycyt-
haemia rubra vera und Erythrocytose
(Polyglobulie)
Med. Klin. 63, 1879 (1968)
13. DAMESHEK, W. : Stress Erythrocytosis.
Blood 8, 282 (1953)
14. EISOLD, H.. : Die Einwirkung eines Serums mit erhöh-
tem Erythropoietingehalt auf menschliches
Knochenmark in vitro.
Diss. Berlin (in Vorbereitung)
15. ERSLEV, A.J. : Effect of polycythemic Serum on the Rate
und E.B. THORLING of Red Cell Production.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 173 (1968)

24. KORST, D.R., : Studies Utilizing Short Term Marrow
E.P. FRENKEL, Culture. I. Ferrocineitics and Ery-
J.E. WILHELM thropoietin.
In: L.O. Jacobson and M. Doyle:
Erythropoiesis. Grune and Stratton,
New York - London (1962)
25. KRANTZ, S.B. und : Some Characteristics of Erythropoietin
E. GOLDWASSER Action on Hemoglobinsynthesis in
Marrow Cell Culture.
Biochim. Biophys. Acta 108, 455 (1965)
26. KRUGERS-DAGNEUX, : Investigations on an Immunoassay of
P.G.L.C., R. Erythropoietin.
GOUDSMIT, H.W. Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 294 (1968)
KRIJNEN
27. KRUMDIECK, N : Erythropoietic substance in the serum
of anemic animals.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 54, 14
(1943)
28. KRZYMOWSKI, T. : Studies on the Erythropoiesis In-
und H.KRZYMOWSKA hibiting Factor in the Plasma of
Animals with Transfusion Polycythemia.
Blood 19, 38 (1962)
29. KUBANEK, B., W.S. TYLER, L. FERRARI, A. PORCELLINI,
D. HOWARD, F. STOHLMAN jr.:
Regulation of Erythropoiesis. XXI. The
Effect of Erythropoietin on the Stem
Cell.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 127, 770
(1968)
30. KUBANEK, B., L. FERRARI, W.S. TYLER, D. HOWARD, S. JAY,
F. STOHLMAN jr. : Regulation of Erythropoiesis. XXIII.
Dissociation between Stem Cell and
Erythroid Response to Hypoxia.
Blood 32, 11, 586 (1968)

31. LANGE, R.D., L.F. O'GRADY, J.P. LEWIS, F. TROBAUGH:
Application of Erythropoietin
Antisera to Studies of Erythropoiesis.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 281 (1968)
32. LAJTHA, L.G. und : Studies on the kinetics of erythro-
R. OLIVER polesis. Model of the erythron.
Ciba Foundation, Symposium on Haemopoiesis, London, Churchill (1960)
33. LAJTHA, L.G. und : Proliferative Capacity of Hemopoietic
R. SCHOFIELD Stem Cells.
Recent Results Canc. Res. 17, 10
(1969)
34. LAWKOWICZ, W. und : Differentialdiagnose hämatologischer
I. KRZEMINSKA- Erkrankungen.
LAWKOWICZ Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1965)
35. LAWRENCE, J.H. und Relative Polycythemia - the Poly-
N. J. BERLIN cythemia of Stress.
Yale J. Biol. Med. 24, 498 (1952)
36. LEVIN, W.C. und : An Endocrinologic Classification of
J. B. ALPERIN Polycythemia Based Upon the Pro-
duction of Erythropoietin.
Amer. J. Med. Sci. 256, 131 (1968)
37. LINMAN, J.W. und : Studies on the Erythropoietic Effects
R.V. PIERRE of Hyperbaric Hyperoxia.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 25 (1968)
38. MATOTH, Y. und : Mitotic Activity of Erythroblasts
L. KAUFMANN Previously Exposed to Erythropoietin.
Blood 20, 165 (1962)

39. MIRAND, E.A., R.A. STEVENS, R.D. LANGE, J.T. GRACE
Virus-induced polycythemia in mice:
Erythropoiesis without erythropoietin.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 128, 844
(1968)
40. MONTZ, R. und : Verteilung des erythropoetischen Kno-
C. SCHNEIDER chenmarks bei Polycythämie und Anämie.
Excerpta Med. Found. Intern. Congr. Ser.
89 216a (1965)
41. NAGY, G. und : Vergleichende Untersuchungen über die
G. DESEÖ Erythropoetinaktivität bei Kranken mit
Polycythaemia vera und chronischer kar-
dio-respiratorischer Insuffizienz mit-
tels Bestimmung der Radioeisen(Fe^{59}) -
Inkorporation.
Folia haemat. Lpz. 88, 337 (1967)
42. NECAS, E. und : The role of oxygen supply in the regu-
J. NEUWIRT lation of erythropoiesis in compensated
anaemia.
Scand. J. Haemat. 6, 179 (1969)
43. NELP, W.B., : Distribution of the Erythron and the RES
S.M. LARSON, in the Bone Marrow Organ.
R.J. LEWIS J. Nuc.Med. 8, 430 (1967)
44. RAAFLAUB, B. und : Differentialdiagnose der Polyglobulien
H. KUMMER mit Hilfe ferrokinetischer Untersuchun-
gen.
Schweiz. med. Wschr. 98, 76 (1968)
45. REISNER, E.H., jr. Tissue culture of bone marrow.
III. Myelostimulatory Factors in Serum
of Patients with Myeloproliferative
Diseases.
Cancer 20, 1679 (1967)

46. REISSMANN, K.R. : Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during hypoxia.
Blood 16, 1411 (1960)
47. REMMELE, W. : Die humorale Steuerung der Erythropoese.
Springer Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg (1963)
48. REYNAFARJE, C. : Humoral Regulation of the Erythropoietic Depression of High Altitude Polycythemic Subjects after Return to Sea Level.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 472 (1968)
49. ROHR, K. : Das menschliche Knochenmark.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1960)
50. SACCHETTI, C., I. PANACCIULLI, F. DIENA, A. TIZIANELLO:
Behavior of Bone Marrow Cultured "in vitro" in Presence of Radioactive Iron (Fe^{59}).
Lecture for the: Symposion on blood and bloodforming cell cultures.
Genova, Italy (1958)
51. SCHOEN, R. und P. DOERING : Erythrocytosen und Erythrämien.
In: Heilmeyer-Hittmair, Handbuch ges. Hämat. Band III, 1 (1960)
52. SCHOOLEY, J.C., J.F. GARCIA, L.N. CANTOR, V.W. HAVENS:
A Summary of Some Studies on Erythropoiesis Using Anti-Erythropoietin Immune Serum.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 266 (1968)
53. SCHULZ, E. : Die klinische Bedeutung des Erythropoetins.
Internist 12, 210 (1971)

54. SHADDUCK, R. D. HOWARD, F. STOHLMAN, jr.:
A Difference in Erythropoietin Production
between Anemic and Hypoxic Mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128, 132 (1968)
55. STOHLMAN, F. jr., S. EBBE, B. MORSE, D. HOWARD, J. DONOVAN:
Regulation of Erythropoiesis. XX. Kinetics
of Red Cell Production.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 156 (1968)
56. WALDMANN, T.A., W. F. ROSSE, R. L. SWARM:
The Erythropoiesis-Stimulating Factors
Produced by Tumors.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 509 (1968)
57. WARD, H. P., W. N. TAUXE, J. M. KIELY:
 Fe^{59} -Autoradiography of Bone Marrow
Culture from Normal Subjects and Patients
with Uraemia and Pernicious Anaemia.
Brit. J. Haemat. 12, 99 (1966)
58. WHITCOMB, W. : The inhibitory effect of plasma from
und hypertransfused animals on erythrocyt
M. Z. MOORE iron incorporation in mice.
J. Lab. Clin. Med. 66, 11, 641 (1965)
59. WOLTERS, H.-G. : Spezifische Regulation der Erythropoese.
Habil. Schrift, FU Berlin (1970)
60. YOFFEY, J.M., R.V. JEFFREYS, D.G. OSMOND, M.S. TURNER,
S. C. TAHSIN, P.A.R. NIVEN:
Studies on Hypoxia: VI. Changes in
Lymphocytes and Transitional Cells in
the Marrow During the Intensification
of Primary Hypoxia and Rebound.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 149, 179 (1968)

61. ZANJANI, E.D., J. CONTRERA, A.S. GORDON, G.W. COOPER,
K.K. WONG, R. KATZ:

Renal Erythropoietic Factor (REF).

III. Encymatic Role In Erythropoietin
Production.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 125,
505 (1967)

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie

EURATOM-GSF, Nr. 031-64-1 BIAD.

An dieser Stelle möchte ich Frau Professor Dr. med.
Irene B o l l für die Überlassung des Themas
und ihre stetige und großzügige Unterstützung danken.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Professor Dr. H.
B e l i t z , der mir bei der statistischen Aus-
wertung meiner Ergebnisse behilflich war.

LEBENS LAUF

Am 1.8.1943 wurde ich als drittes Kind des Bankkaufmannes Max Troester und seiner Ehefrau Therese, geb. Nerré, in Berlin geboren.

Nach dem Besuch der Zentralschule in Dahlewitz/Zossen von 1949 bis 1957 wechselte ich auf die Karl-Liebknecht-Oberschule in Blankenfelde/Zossen über.

1960 zogen meine Eltern nach Westberlin, und ich kam auf die Eckener-Oberschule in Berlin-Mariendorf, an der ich 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Am 14.10.1963 wurde ich an der Freien Universität Berlin, Fachrichtung Zahnheilkunde, immatrikuliert und bestand hier im Herbst 1966 das Physikum und am 18.10.1969 das zahnärztliche Staatsexamen.

Am 1.1.1970 begann ich als Assistent in einer Westberliner Zahnarztpraxis und seit dem 1.4.1971 bin ich als Wissenschaftlicher Assistent an der Zahn-, Mund- und Kieferklinik der Freien Universität Berlin in der Prothetischen Abteilung beschäftigt.

